

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin im Klinikum Westend

Direktor: Prof. Dr. E. S. Bücherl

Immunchemische Studien zur Aufklärung sputumspezifischer Proteine

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Liselott Meißner, geb. Döhner
aus Berlin

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550802_0069

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin im Klinikum Westend

Direktor: Prof. Dr. E. S. Bücherl

Immunchemische Studien zur Aufklärung sputumspezifischer Proteine

Inaugural-Dissertation

**zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin**



vorgelegt von

Liselott Meißner, geb. Döhner

aus Berlin

Referent: Frau Professor Dr. H. GÖTZ

Korreferent: Professor Dr. T. DIAMANTSTEIN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 12. November 1973



A. E i n l e i t u n g

Untersuchungen zur Aufklärung von Sputumproteinen wurden aufgrund des einschlägigen Schrifttums bereits von einer Reihe namhafter Forschergruppen vorgenommen (1-15, 17, 19, 20, 25, 27-30, 38, 40, 41, 43-45, 49, 51, 55-60, 64-66, 68, 69, 72, 74, 75, 79, 81, 82, 84, 85, 88, 89, 91). Es handelte sich dabei sowohl um einfache elektrophoretische als auch um immunelektrophoretische Differenzierungsergebnisse von Proben des Tracheobronchialsekrets mit zum Teil näherer biochemischer Charakterisierung einzelner Proteinfractionen. Im Mittelpunkt des Interesses standen dabei die Immunglobuline, unter ihnen das IgA, dem im Schleimhautsekret sowohl des Respirations- als auch des Verdauungstraktes eine besondere Bedeutung zukommt (42-45, 70, 77, 78, 81, 82, 85).

Darüber hinaus wurde das Augenmerk auf serumidentische Proteine im Sputum unter pathologischen Bedingungen gerichtet.

Schließlich wurden immunbiologische Stoffwechsel- sowie histochemische Untersuchungen zur Aufklärung der Funktion wie auch der Bildungsstätten der Sekretproteine vorgenommen (7, 8, 19, 28, 29, 34, 36, 39, 41, 45-47, 50, 54-58, 70, 71, 77, 78, 81, 83).

Obwohl alle diese Forschungsergebnisse eine Vielfalt von Einzelbefunden über Sputumproteine zutage gefördert haben, werden Angaben über das gesamte Protein-

muster des Tracheobronchialsekrets bis heute vermißt.

In vorliegender Arbeit sollte deshalb mit Hilfe immunochemischer Techniken sowohl die sputumspezifische als auch die Gesamtproteinkonstellation dieses Sekrets aufgeklärt werden.

B. I. Versuchsanordnung, Untersuchungsgut und Methodik

1) Versuchsanordnung:

Jeweils zwei Kaninchen wurden im Xenosensibilisierungsversuch mit dem eingeengten Sputumpool von gesunden Personen resp. mit einem Serumpool, ebenfalls von Gesunden, sowie mit einem entsprechenden Sputumpool von Patienten mit asthmoider Bronchitis behandelt. Die nach verschiedenen zeitlichen Abständen gewonnenen präzipitierenden Antiseren wurden nach Art ihrer optimalen Präzipitationssysteme für den Hauptversuch ausgewählt. Mit den jeweils besten Antiseren wurden folgende Studien zur Identifizierung von Sputumantigenen (Proteinfractionen) vorgenommen:

Zweidimensionale Immundoppeldiffusion im Agargel unter Verwendung der gewonnenen polyvalenten Antiseren gegen Sputum sowie Humanseren, sowie unter Verwendung der monovalenten Antiseren gegen folgende Serumproteinfractionen: Prä-Albumin, Albumin, saures α_1 -Glykoprotein, leicht präzipitierbares α_1 -Glykoprotein, α_1 -Lipoprotein, α_1 -Antitrypsin, α_2 -Glykoprotein, α_2 -Makroglobulin, α_2 -Haptoglobin, α_2 -Coeruloplasmin, α_2 -Lactoferrin, Gc-Typen, β_1 -Hämopexin, β_1 -Transferrin, β_1 C/A (Komplementfaktoren), β -Lipoprotein, IgG, IgA, IgM, IgD, IgE, C-reaktives Protein.

Dabei wurde auf eine vergleichende Analyse zwischen

Sputum- und Serumproteinen geachtet. Weiterhin wurden immunelektrophoretische Untersuchungen an Sputumproteinen unter Verwendung der gleichen oben angeführten Antiseren vorgenommen. Schließlich wurden serumidentische Sputumproteine durch polyvalentes Antihumanserum sukzessive bis zur Erschöpfung absorbiert und nachfolgend mit spezifischem Antisputumserum immunchemisch differenziert, um auf diese Weise die ausschließlich sputumspezifischen Proteinkomponenten herauszustellen.

2) Untersuchungsgut:

Zur Gewinnung spezifischer Sputum- bzw. Serumprotein-Antiseren wurden insgesamt sechs Kaninchen in Versuch genommen. Jeweils zwei von ihnen erhielten nach einem bestimmten Sensibilisierungsplan Sputum aus einem Pool von sechs Einzelproben gesunder Probanden, bzw. einem Pool von 24 Einzelproben von Patienten mit asthmoider Bronchitis appliziert. Die beiden anderen Tiere wurden ebenfalls nach einem bestimmten Sensibilisierungsplan mit Serum aus einem Pool von sechs Gesunden behandelt.

Die Untersuchungen des Hauptversuches mit verschiedenen immunchemischen Techniken beliefen sich auf fünf Analysensätze mit 30 Einzelanalysen, somit insgesamt auf 814 Befunde (s. Tabelle 1).

	Immunelektrophorese		Anzahl der Analysen
	Immundiffusion	Sputumeinzelproben	
6 Gesunde } 30 24 Patienten } Analysen	mit 20 monovalenten Antisera (s. Tab. 2)	AHS; A-IgA; ASp; ASp abs	ID 600 IE 120
6 Gesunde } 30 24 Patienten } Analysen		Serumeinzelanalysen	30
Gesunde Patienten	AHS; ASp; ASp abs Alb; α_1 A; Tf; IgA; IgM; IgG	Sputumpool AHS; ASp; ASp abs Alb; α_1 A; Tf; IgA; IgM; IgG	18
	AHS; ASp; ASp abs 20 monovalente Antisera	AHS; ASp; ASp abs 20 monovalente Antisera	46
			814

Tab. 1: Aufgliederung der durchgeführten immunchemischen Untersuchungen

3) Methodik:

a) Gewinnung der Sputumproben

Die Sputumproben wurden entweder durch blinde Absaugung über einen Intratrachealkatheter, im Verein mit einer Bronchoskopie oder durch spontane Expektoration gewonnen ⁺⁾ .

b) Aufbereitung der Sputumproben für die Injektionsserie

- | |
|-------------------|
| 1. poolen |
| 2. homogenisieren |
| 3. einengen |

Die gewonnenen Sputumproben wurden in jeweils gleiche Voluminamengen gemischt und mit dem Ultrathoraxstab in der Kälte durch mehrmaliges kurzfristiges Rotieren homogenisiert.

Unmittelbar danach wurde dieser Sputumpool gegen 20 %-iges Kollidon ⁺⁺⁾ auf etwa das 3-4-Fache eingengt. Ein Teil dieses so behandelten Sputumpools wurde für die Erstsensibilisierung mit Freundschem Adjuvans ⁺⁺⁺⁾ im Verhältnis 1 : 2 gemischt und unmittelbar vor Applikation mit einem Glasstab homogenisiert.

⁺⁾ Die einzelnen Proben verdanke ich Herrn O.M. Direktor Dr. med. S c h m i d t , Leiter der Bad Reichenhaller Forschungsanstalt für Erkrankungen der Atmungsorgane und Herrn Dr. med. H u s s e l s , Chefarzt des Zentral-labors der Städt. Klinik für Lungenkranke Heckeshorn, Berlin.

⁺⁺⁾ Luviskol BASF 20 %-ig.

⁺⁺⁺⁾ Freundsches Adjuvans, complete Difco Laboratories, Detroit 1, Michigan USA.

c) Aufbereitung der Serumproben

- | | |
|--|--|
| <div data-bbox="194 240 828 363" data-label="List-Group"><ol style="list-style-type: none">1. Gewinnung durch Venenpunktion lege artis2. zentrifugieren3. poolen</div> | |
|--|--|

Die Seren von den 6 Gesunden wurden lege artis unter sterilen Kautelen durch Punktion einer Armvene gewonnen. 10 ml Venenblutes eines jeden Probanden wurden ca. 15 Min. bei Zimmertemperatur stehen gelassen und danach bei 5 000 Upm zentrifugiert. Gleiche Volumina des überstehenden, hämolyse- und lipämiefreien Serums wurden gepoolt und für die Sensibilisierung verwendet.

d) Gewinnung der Antiseren

α. Sensibilisierungsplan

Die Sensibilisierung erfolgte nach dem in Abbildung 1 aufgeführten Sensibilisierungsplan (Abb. 1).

β. Auswahl der Antiseren

Aufgrund der Ergebnisse verschiedener immunchemischer Kontrolluntersuchungen während der Sensibilisierung wurde das optimal präzipitierende Antiserum ausfindig gemacht. Durch Anschneiden einer randnahen Ohrvene wurden nunmehr Mengen bis zu 50 ml Blut abgenommen. Das gewonnene Serum wurde in Röhrchen zu jeweils 2 ml abgefüllt und bei - 20° C aufbewahrt. Hämolytisches oder lipämisches Serum wurde nicht verwendet.

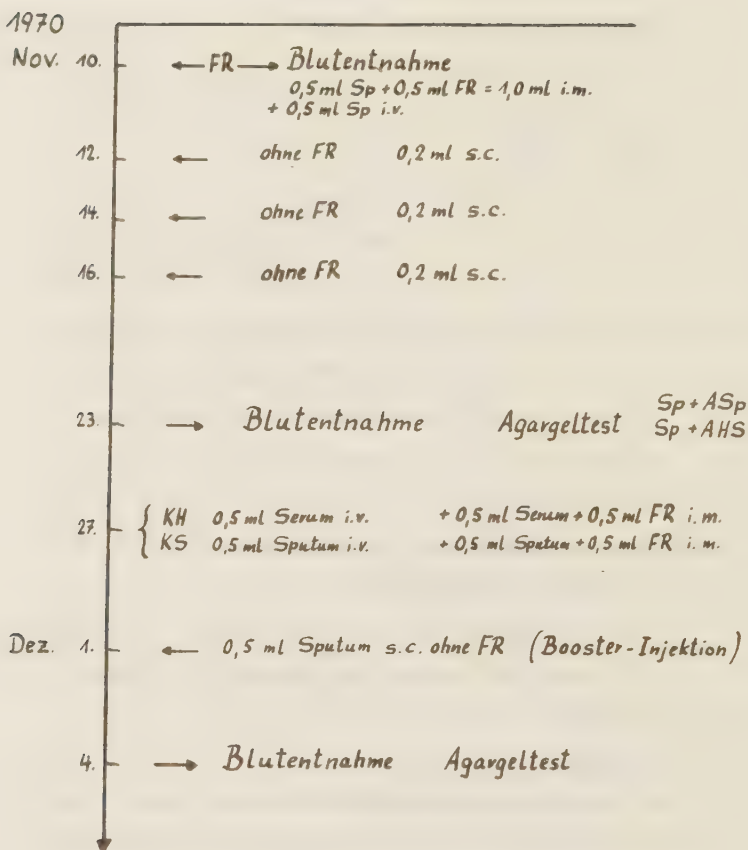


Abb. 1: Sensibilisierungsplan für Kaninchen,
 die mit Sputumprotein sowie für Ka-
 ninchen, die mit Serumeiweißkörpern
 behandelt wurden.

KH = mit Serum behandelte Kaninchen
 KS = mit Sputum behandelte Kaninchen
 FR = Freund'sches Adjuvans®
 Sp = Sputum; ASp = Antisputum serum
 AHS = Antihumanserum

e) Aufbereitung von Absorptionspräparationen

α. Absorption von Sputumproteinen durch Antihumanserum

Es wurden in Spitzröhrchen jeweils 0,8 ml Sputums aus dem oben beschriebenen Sputumpool mit 0,2 ml 1 : 2 verdünntem Antihumanserum versetzt, zwei Stunden bei 37° C im Brutschrank und anschließend bei + 4° C im Kühlschrank belassen. In der Spitze fand sich so lange ein sichtbares Präzipitat, als serumidentische Fraktionen im Sputum vorhanden waren. Der Überstand wurde durch Zentrifugieren bei 5 000 Upm fünf Minuten lang und Absaugen von dem scharf abgesetzten Präzipitat erneut so lange im gleichen Verhältnis mit dem 1 : 2 verdünnten Antihumanserum versetzt, bis kein Präzipitat mehr faßbar war.

β. Absorption des Antisputumserums durch menschliche Normalproteine

Der Absorptionsvorgang entsprach im Prinzip den unter e) α. gemachten Angaben.

f) Zweidimensionale Immundoppeldiffusion

Es wurde die Methode nach OUCHTERLONY (67) mit üblicher Anordnung oder als Rosettentest gewählt.

Arbeitsgänge:

α) Aufbereiten des gepufferten Agars

β) Gießen der Agarschicht und Ansetzen der für den Analysensatz vorgesehenen Lösungen

γ) Ausbildung der Präzipitate

δ) Dokumentation

ε) Färben mit Amidoschwarz 10 B.

In Abbildung 2 a und b sind die verwendeten Schablonen für die einzelnen Analysensätze schematisch wiedergegeben.

g) Immunelektrophorese

Die Immunelektrophorese wurde nach dem Prinzip von GRABAR und WILLIAMS (31, 32), im einzelnen nach den Angaben von SCHEIDEGGER (73) als Mikromethode auf Objektträgern vorgenommen.

Material und Reagenzien:

- α) Objektträger, fett- und staubfrei
- β) Agar-Agar (Reinagar)
- γ) Natriumacetatpuffer
- δ) Konservierungsmittel, z. B. Merfen 4⁰/oo-ig, Cialit
- ε) Antigen-Lösung: z. B. Patientenserum
Antikörper-Lösung: z. B. polyvalentes oder/und
monovalentes Antiserum

Apparative Einrichtungen:

- α) Elektrophoresekammer
- β) Spannungsspeisegerät (für 100 bis 300 V Gleichspannung)
- γ) Feuchte Kammer
- δ) Trockenschrank
- ε) Photokopier- oder Photographier-Einrichtung

Arbeitsgänge:

- α) Aufbereiten des gepufferten Agars
- β) Gießen der Agarschicht und Vorbereiten des Agars für die Aufnahme der Antigen-Lösung

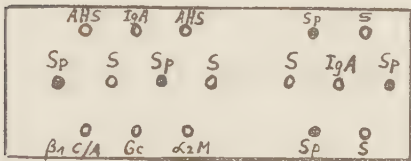
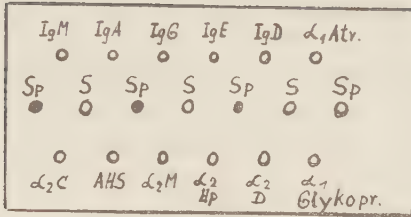


Abb. 2a: Schablone für die zweidimensionale
Immundoppeldiffusion.

S = Serum
Sp = Sputum
AHS = Antihumanserum
Atr = Antitrypsin

Anti									
↓			↓			↓		↓	
Sp abs	α_1 Atr.	Sp abs	α_2 Glyko		α_2 Hp		α_2 C		
○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	.	.	.	.	.	.	.	.	.
○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
↑	Alb	↑	β_2 A/C	↑	α_2 D	↑	α_2 M	↑	

↓		↓		↓		↓		↓	
I_g A	I_g G		I_g M		I_g D				
○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
↑	α_1 L	↑	α_2 β / L	↑	CRP	↑	I_g E	↑	

Abb. 2b: Schablone für die zweidimensionale Immundoppeldiffusion.

S = Serum

Sp = Sputum

AHS = Antihumanserum

Sp abs = absorbiertes Sputum

- δ) Antigenauftragung und Elektrophorese
- δ) Beschicken der Objektträger mit dem Antiserum
- ε) Ausbildung der Präzipitate
- ξ) Dokumentation und weitere Behandlung der Präparate
(Abbildung 3 a, b, c, d).

_____	KS ₁
_____	Sp •
_____	KS ₂

_____	KH I
_____	HS •
_____	KH II

_____	KS ₁
_____	Sp •
_____	KS ₂

_____	KH I
_____	HS •
_____	KH II

KS ₁	_____	• Sp(einge)
KS ₂	_____	• Pat.
KS abs	_____	• A
AHS	_____	• B
	_____	• A

Abb. 3a: Schablone zur Immunelektrophorese der Kaninchenserum nach Behandlung mit Sputumprotein bzw. Serumeiweißkörpern.

KH = mit Serum behandelte Kaninchen
 KS = mit Sputum behandelte Kaninchen
 Sp = Sputum; HS = Humanserum
 AHS = Antihumanserum

AHS	o Sp (eingengt)
Ig A	o S
Ig G	o Sp
Ig M	o S
Ig D	o Sp

Ig E	o Sp
AK ₂ HP	o S
A-Tryp	o Sp
β ₁ C	o S
α ₁ Lipo	o Sp

AHS	o Sp (einge.)
ASpS	o HS
AHS	o Sp (Pat. frisch)
ASpS	o HS

Abb. 3b: Schablone der Immunelektrophorese

S = Serum; Sp = Sputum;
 AHS = Antihumanserum
 A-SpS = Antisputumserum

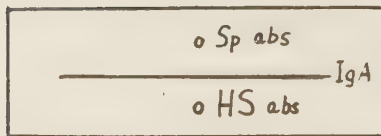
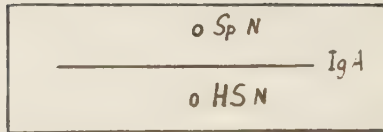


Abb. 3c: Schablone der Immunelektrophorese

HS N = Humanserum normal

Sp N = Sputum normal

HS abs = Humanserum absorbiert

Sp abs = Sputum absorbiert

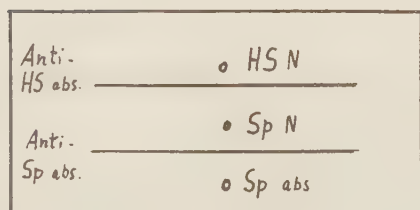
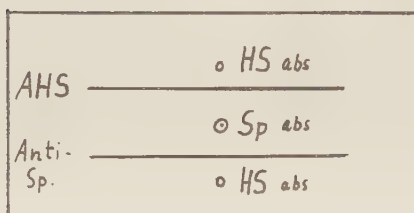
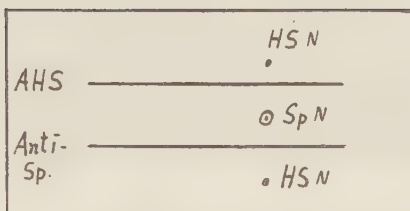


Abb. 3d: Schablone der Immunelektrophorese

HS abs = Humanserum absorbiert

Sp abs = Sputum absorbiert

AHS = Antihumanserum

HS N = Humanserum normal

Sp N = Sputum normal

II. E r g e b n i s s e

Die Ergebnisse der zweidimensionalen Immundoppeldiffusion und der Immunelektrophorese werden in jedem Abschnitt gemeinsam abgehandelt.

- 1) Ergebnisse der nicht absorbierten Sputum- und Serumproben unter Verwendung eines Antihumanserums, bzw. spezifischer polyvalenter und monovalenter Antiseren gegen menschliche Proteine.

a) Serumidentische Sputumproteine

α) Sputum von Gesunden

Unbehandeltes, jedoch um das 10 -Fache eingengtes Sputum eines Gesunden läßt bei Verwendung eines polyvalenten Antihumanserums im wesentlichen vier Präzipitationslinien erkennen, die sich immunelektrophoretisch als Albumin, eine weitbogige Präzipitationslinie, die aus dem α_1 - bis in den β_1 -Bereich reicht, sowie zwei nahe beieinander liegende, jedoch nicht völlig parallel verlaufende Linien im α_2 - β -Bereich erwiesen (Abbildung 4 a).

Dies stimmt weitgehend mit den Ergebnissen der zweidimensionalen Immundiffusions-Analysen, die in einer Reihe von Ansätzen unter Verwendung monovalenter Antiseren gegen menschliche Serumproteine und unter Berücksichtigung der jeweiligen Äquivalenzonen vorgenommen wurden.

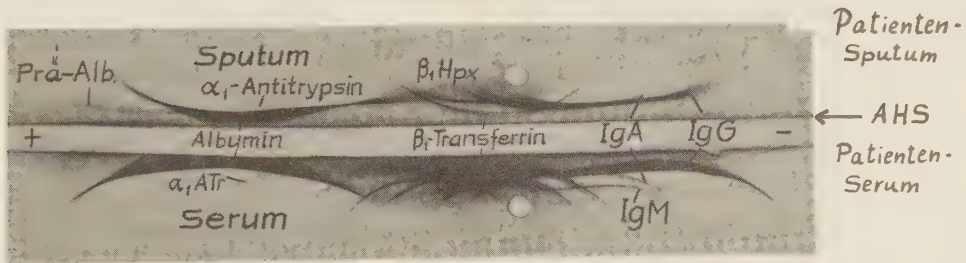
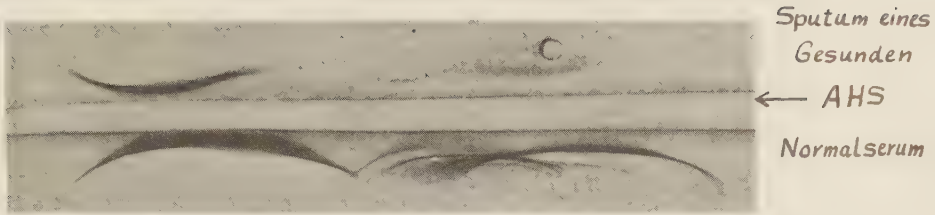


Abb. 4a,b: Immunelektrophoretische Analysen des Sputums (a) sowie des Serums (b) eines Patienten mit asthmoider Bronchitis. Das Sputum war homogenisiert und auf das 4-Fache eingengt worden. Als Antiserum wurde ein polyvalentes Antihumanserum von der Ziege der Fa. Hyland Lab., Vertrieb durch Travenol Internat, München, verwendet.

Die Befunde entsprechen im wesentlichen auch dem immunoelektrophoretischen Ergebnis unter Verwendung monovalenter Antiseren, wobei auch hier in Einzelfällen unterschiedliche Verdünnungen verwandt wurden.

β) Pathologische Sputumproben

In pathologischen Sputumproben ließen sich darüber hinaus eine weitere α -Globulinfraktion sowie eine langgezogene Präalbuminfraktion wahrnehmen (Abb. 4b). Die Befunde dieser Proben sind in Tabelle 2 und in den Abbildungen 5 und 6 summarisch ausführlich aufgeführt.

Lfd. Nr.	Symbol der Proteinfraction	I			II	
			a		b	
1	Prä-Albumin	-	++		-	
2	Albumin	++++	++++		-	
3	saures α_1 -Glykoprotein	+++	+++		+++	
4	leicht präzipitierbares α_1 -Glykoprotein	++	-		-	
5	α_1 -Lipoprotein	-	Ø		Ø	
6	α_1 -Antitrypsin	+++	++		+++	
7	α_2 -Glykoprotein	Ø	Ø		Ø	
8	α_2 -Makroglobulin	+	+		+	
9	α_2 -Haptoglobin	+	+		+	
10	α_2 -Coeruloplasmin	Ø	Ø		+	
11	α_2 -Lactoferrin	++	++		++	
12	Gc-Typen	-	Ø		Ø	
13	β_1 -Hämopexin	+	+		+	
14	β_1 -Transferrin	++	++		++	
15	β_1 C/A (Komplementfaktoren)	+	Ø		Ø	
16	β -Lipoprotein	-	Ø		Ø	
17	Immunglobulin A = IgA	+++	+++		+++	
18	Immunglobulin G = IgG	+	++		++	
19	Immunglobulin M = IgM	+	+		+	
20	Immunglobulin D = IgD	-	Ø		+	
21	Immunglobulin E = IgE	+	Ø		Ø	
22	C-reaktives Protein	-	Ø		Ø	

Tab. 2: Übersicht über die immunoelektrophoretisch differenzierten Sputumproteine. Es handelt sich zumeist um Untersuchungsergebnisse der Sputumproben von Patienten mit Erkrankungen des Respirationstraktes.

I = Die Gesamtheit der Ergebnisse aller Autoren, die immunoelektrophoretische Analysen an Sputumproben vorgenommen haben.

II = Eigene immunoelektrophoretische Befunde bzw. Ergebnisse nach Immundiffusion

a = Immunelektrophorese

b = zweidimensionale Immun-Doppeldiffusion nach OUCHTERLONY

++++ und +++ = starke Präzipitatbildung

++ = deutlich sichtbare Präzipitatbildung

+ = schwacher Präzipitatchnachweis

- = dieses Protein wurde nicht untersucht

Ø = dieses Protein wurde analysiert, jedoch für negativ befunden.



Abb 5 Vergleichende immunoelektrophoretische Analysen von Serum und Sputum unter Verwendung eines polyvalenten Antihuman-Serums und monovalenter Antiseren gegen verschiedene Serumproteinfraktionen

S = Serum
 Sp = Sputum
 AHS = Anti-Humanserum

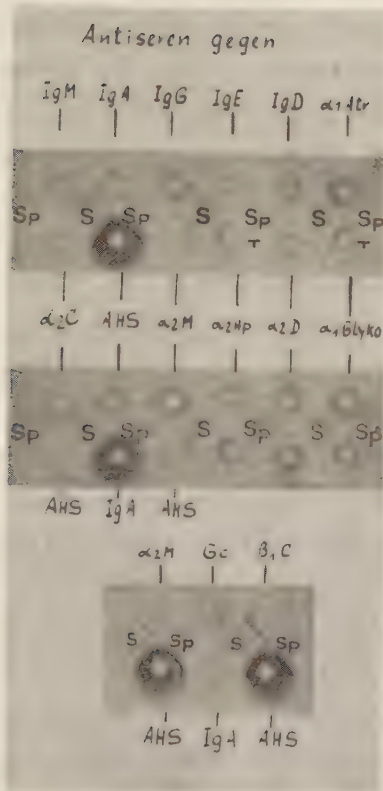


Abb. 6: Befunde der zweidimensionalen
Immunodiffusion

Sp = Sputum

S = Serum

AHS = Anti-Hämanserum

b) Sputumspezifische Proteine

Mit einem selbst hergestellten polyvalenten Antisputumserum vom Kaninchen wurden im Sputum gesunder Probanden insgesamt sechs Präzipitationslinien darstellbar (Abb. 7 b). Sie ließen sich, bis auf eine Ausnahme, im Elektrophoresebereich von der Auftragstelle bis weit anodisch nach weisen. Die eine Ausnahme entspricht wahrscheinlich dem IgG.

Vergleiche auch Abbildung 5.

c) Unterschiede von Sputum- und Serumproteinen

Sowohl formanalytisch als auch durch ihre unterschiedliche elektrophoretische Position können die Sputum- und Serumproteine definiert werden. Bei Vergleich der verschiedenen Präzipitationsphänomene von identischen Proteinen des Sputums und des menschlichen Serums ist festzustellen, daß die Zahl dieser Proteine im Sputum wesentlich geringer ist (max. acht im Vergleich zu 18) als die im Serum. Weiterhin ist festzustellen, daß die meisten Sputumproteine eine wesentlich größere Wanderungsgeschwindigkeit aufweisen als die entsprechenden Proteine des menschlichen Serums (Abb. 7 a).

2) Ergebnisse bereinigter Antigene und absorbierter Immunseren

Von den verschiedenen Absorptionsversuchen soll im nachfolgenden das wichtigste Ergebnis dargelegt werden.

Das mit Antihumanserum versetzte und damit um die serumidentischen Proteine bereinigte Sputum ließ in den meisten Fällen nur noch zwei Komponenten erkennen: eine Präalbu-

minfraktion sowie die oben beschriebene α -Globulinfraktion. Darüber hinaus ließ sich eine im γ A-Bereich gelegene Komponente in sehr geringer Konzentration nachweisen.

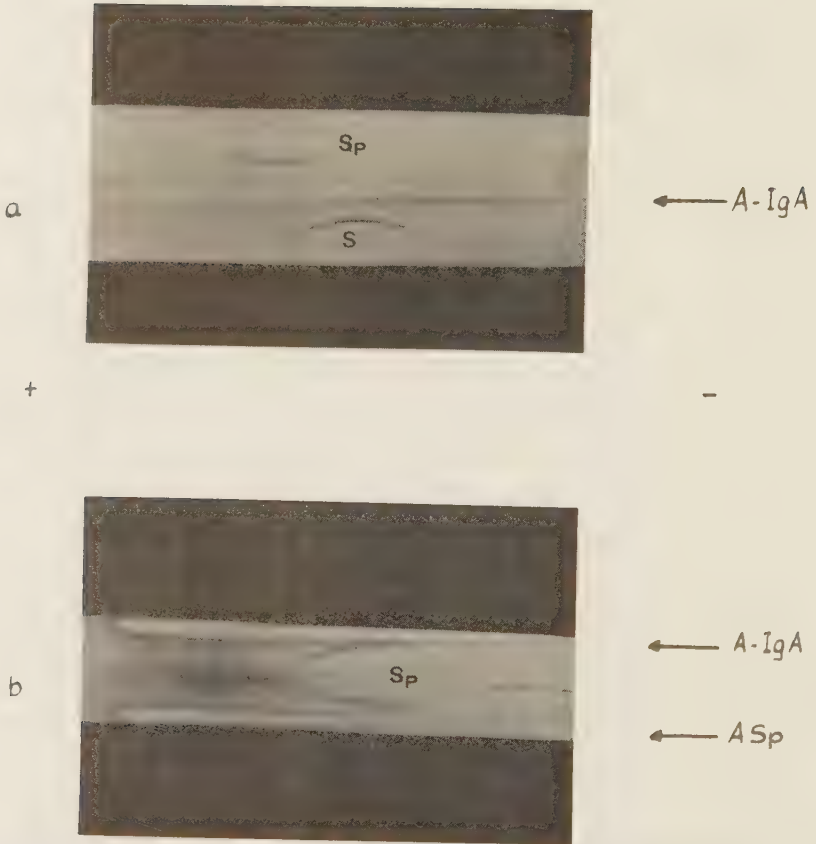


Abb. 7a,b Immunelektrophorese

S = Serum

Sp = Sputum

ASp = Antisputumserum

A-IgA = Antiserum gegen IgA (monovalent)

III. Diskussion

Bisherige, in der einschlägigen Literatur angegebene Untersuchungen an Sputumproteinen sind an unterschiedlich aufbereiteten Proben vorgenommen worden. Dabei wurde von einer Reihe von Untersuchern darauf hingewiesen, daß nur die Behandlung mit Ultrazentrifugation, Ultraschallbehandlung und anschließender Gefriertrocknung bei der Notwendigkeit längerer Aufbewahrungszeiten geeignet sei (10, 11, 52, 69). Andere haben die Behandlung mit Säuren und proteolytischen Fermenten für bestimmte Fragestellungen angewandt (1, 3-7, 10, 11, 19, 74). Die hier vorgenommenen Aufbereitungsmaßnahmen scheinen jedoch durchaus geeignet gewesen zu sein, um einerseits eine gute Antikörperbildung, andererseits eine intensive Aufklärung der Proteinkomponenten zu ermöglichen. Eine Denaturierung war insofern weitgehend auszuschließen, als die Sputumproben unverzüglich homogenisiert und bis zum Zeitpunkt der Poolherstellung bei -15°C gelagert worden waren.

Die vorliegenden Befunde haben gezeigt, daß mit einem spezifischen Heteroantiserum gegen menschliche Sputumproteine eine Reihe wohldefinierter Serumproteine nachweisbar wird (Tab. 2; Abb. 5 und 6).

Dagegen wurden folgende serumidentischen Proteine vermißt: α_1 - und α_2 -Lipoprotein; Gc-Globulin; $\beta_1\text{C}$, IgE sowie CRP. IgD wurde in nur wenigen Sputumproben nachweisbar und dies nur im Ouchterlony-Test. Diese Befunde

zeigen weitgehende Übereinstimmung mit den Untersuchungsergebnissen anderer Autoren. Dagegen ergeben sich für einige Fälle Diskrepanzen: während in den eigenen Befunden β_1C in keiner Probe nachgewiesen werden konnte, gelang anderen Untersuchern im Immundiffusionstest der Nachweis dieses Proteins, allerdings nur in der Solphase ihrer Sputumproben (14, 15, 17, 20, 51, 59, 64-66, 68, 69, 72, 74, 78, 91). Bei Untersuchungen einzelner eingeengter Sputumproben von klinisch Gesunden konnte mit demselben Antisputumserum eine wesentlich geringere Anzahl von Proteinen, d. h. nur vier Komponenten, nachgewiesen werden. Als Besonderheit ist hier zu vermerken, daß IgM in keiner der Analysen faßbar wurde. Nach Absorption des Tracheobronchialsekrets durch Antihumanserum wurden insgesamt nur noch zwei Präzipitationslinien nachweisbar, wobei sich die eine als α_2 -Globulin, die andere als IgA identifizieren ließ. Es handelt sich dabei wahrscheinlich um das Lactoferrin sowie um ein Teilprodukt des Sekret-IgA.

Bei Vergleich der immunelektrophoretischen Präzipitationsphänomene identischer Proteine im Sputum und Serum muß festgestellt werden, daß die Proteine des Sputums eine zumeist größere Wanderungsgeschwindigkeit besitzen (vergl. auch Abb. 7 a). Das gilt in auffallendem Maße für das IgA, aber auch für das IgG sowie für das α_2 -Coeruloplasmin. Obwohl, trotz Einengung der Sputumproben, Unterschiede in der Eiweißkonzentration zwischen

Serum und Sputum vorgelegen haben, ist es sicher unwahrscheinlich, daß mit der niedrigeren Eiweißkonzentration des Sputums allein die größere Wanderungsgeschwindigkeit der Sputumproteine zu erklären ist. Bezogen auf Absolutkonzentrationen - es wurden in anderem Zusammenhang Einzeluntersuchungen mit der radialen Immundiffusionstechnik vorgenommen - erwies sich z. B. das IgA gleichstark oder noch höher vertreten als im Serum. Somit scheint die größere Beweglichkeit der Sputumproteine im elektrischen Feld einer Eigentümlichkeit der Sputumproteine zu entsprechen. Sie ist sicher auch nicht allein von der Molekülgröße der einzelnen Proteine abhängig, sondern aller Wahrscheinlichkeit von der stärkeren Dissoziation, bzw. elektronegativen Ladung, was indirekt Rückschlüsse auf strukturelle Abweichungen von entsprechenden Serumproteinen zuläßt. Immunologisch zeigen sie dagegen komplette Identität mit Serumproteinen. Bei Vergleich der Ergebnisse nach Immundiffusion und derjenigen nach Immunelektrophorese ist festzustellen, daß die Ausbeute der positiven Reaktionen mit monovalenten Antiseren im OUCHTERLONY - Test relativ größer war als die der immunelektrophoretischen Analyse, was im übrigen auch den Erfahrungen anderer Untersucher entspricht (72). Dies ist mit den unterschiedlichen Abständen wie auch geringfügigen Differenzen in der Konzentration der Reaktionspartner zu erklären, was besonders in den Fällen offensichtlich wird, in denen die Äquivalenzzone nur sehr begrenzt ist oder in welchen die Gesamtkonzentration der Einzelproteine außerordentlich nie-

drig liegt.

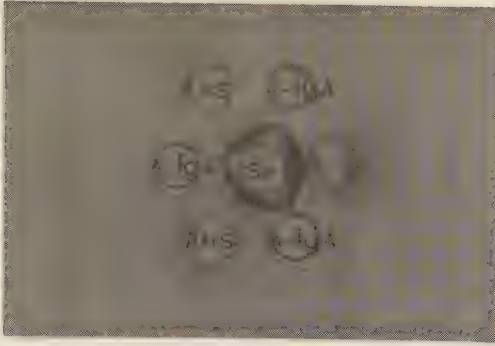
Die mit spezifischem Antisputumserum gewonnenen Ergebnisse sollten als Beweis gelten für die Existenz sputumspezifischer Proteine. Damit ist allerdings nicht gleichzeitig ausgeschlossen, daß ein Teil dieser Sputumproteine dennoch aus gleicher Quelle stammt wie die Serumproteine. Die Absorptionsversuche legen demgegenüber dar, daß offenbar nur eine α_2 -Komponente sowie eine Komponente des IgA Sputumspezifität besitzen.

Aufgrund der OUCHTERLONY - Analysen an absorbierten Sputen und unter Verwendung spezifischer Antisputumseren sowie monovalenter Antihumanseren konnte allerdings auch Teilidentität mit IgA des Serums aufgezeigt werden (Abb. 8 a, b, c).

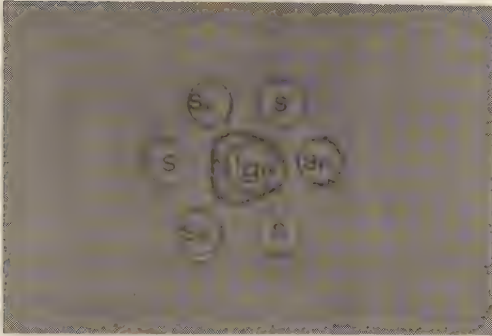
Zur Herkunft der Sputumproteine ist folgendes zu sagen: IgA mit seinem Sekretstück, ferner IgG, IgM, IgE, Lactoferrin, Lysozym und andere schleimspezifische Fermente sowie die verschiedenen Mucine entstammen aller Wahrscheinlichkeit nach der Bronchialschleimhaut selbst, und zwar einerseits dem Drüsenepithel, andererseits den Lymphoid- und Plasmazellen (Ig - Produktion !) der Submucosa. Darüber hinaus findet sich bei Atopikern das IgE an submucös gelegenen Mastzellen und basophilen Leukozyten oberflächlich fixiert.

Inwieweit auch Albumin, α_1 -Antitrypsin sowie das leicht präzipitierbare α_1 -Glykoproteid lokal in den Drüsenzellen der Bronchialschleimhaut synthetisiert werden, ist noch nicht geklärt. Wahrscheinlicher ist es jedoch, daß diese

a



b



c

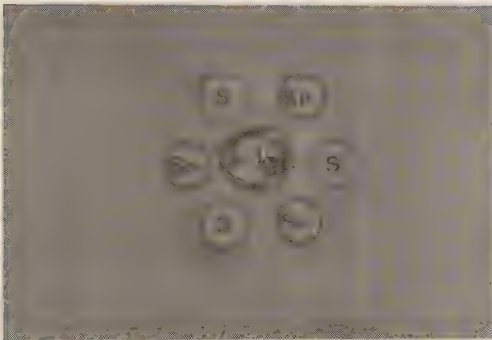


Abb. 8 a, b, c Zweidimensionale
Immundoppeldiffusion

Sp = Sputum; S = Serum; AHS = Anti-Humanserum;
A-IgA = Antiserum gegen IgA (monovalent)

niedermolekularen Fraktionen dem Serum und damit zum größten Teil der Leber entstammen.

Beimengungen aus dem Speichel müssen diskutiert werden, auch dann, wenn Tracheobronchialsekret sorgsam durch lokale Absaugung gewonnen wurde. In Frage kommen hier jedoch nur Protein- und Fermentkomponenten, die biochemisch mit den gleichen Faktoren der Bronchialschleimhaut identisch sind: Sekret-IgA, Lactoferrin sowie Amylase. Es kann dabei lediglich eine Relationsverschiebung, nicht aber eine Qualitätsänderung des Sputumproteinmusters verursacht werden, die nach bisherigen Erfahrungen unerheblich ist.

Alle übrigen Fraktionen, die zumeist nur unter pathologischen Bedingungen im Sputum nachgewiesen werden, dürften als Ausdruck einer Diffusion von Plasmaproteinen aus submucös gelegenen, geschädigten Kapillaren aufzufassen sein.

Schließlich können Proteine von Mikroorganismen dem Sputum beigemischt sein. Das gilt vor allem für die Fälle, in welchen die proteolytische Fermentaktivität der Schleimhautzellen herabgesetzt ist; das gilt aber auch für jene Beispiele, in welchen eine intensive Keiminvasion die physiologische Barrierenfunktion der Bronchialschleimhaut zum Erliegen bringt.

Physiologische und pathophysiologische Bedeutung einiger ausgewählter Sputumproteine.

1. α_1 -Antitrypsin

Das α_1 -Antitrypsin, ein Glykoprotein, ist durch seine Trypsin-Chymotrypsin-Inhibitorfunktion ausgezeichnet (in 74).

Es scheint somit jenen Faktoren im Schleim und in der Bronchialschleimhaut zugeordnet zu sein, welche der Auto-proteolyse entgegenwirken sollen. Von Bedeutung sind sowohl die α_1 -Antitrypsin-Hyperproduktion als auch der Mangel an α_1 -Antitrypsin.

Die Hyperproduktion kann zu einer zu starken Abpufferung des tryptischen Fermentsystems führen und damit die pathophysiologischen Abbauvorgänge von Fremdproteinen hintanhalten oder gar unterbinden. Der α_1 -Antitrypsinmangel erlangt Bedeutung im Zusammenhang mit dem hereditären α_1 -Antitrypsindefekt. Er tritt in entsprechenden Familien allerdings nur bei Homozygoten auf, während die Heterozygoten lediglich eine Verminderung der α_1 -Antitrypsinkonzentration (wahrscheinlich im Serum und Bronchialschleim) auf 40 bis 50 % ihres Normalspiegels aufweisen. Der extreme α_1 -Antitrypsinmangel ist häufig mit einem schweren Lungenemphysem und mit einem Cor pulmonale vergesellschaftet (22, 26, 34, 38, 62, 76, 79, 86, 90). Dabei wird für das Entstehen dieses Lungenemphysems die durch die aufgehobene Antitrypsin-Antichymotrypsinwirkung einsetzende tryptische Selbstverdauung als verursachendes Moment angeschuldigt.

2. α_2 -Lactoferrin

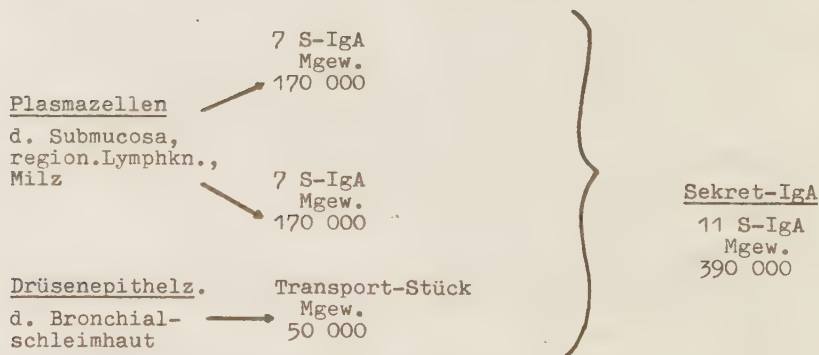
Das α_2 -Lactoferrin ist ein Glykoproteid mit einem Molekulargewicht von 82 500 (in 91, 63) mit der besonderen Fähigkeit, Eisenionen zu binden. Es wurde im Sputum erstmals von der Forschergruppe um BISERTE (7) nachgewiesen;

seine Bildungsstätte ist das Drüsenepithel der Bronchialschleimhaut. Die wichtigste Funktion dieses Proteins besteht in der bakteriostatischen Wirkung, vor allem mit Bezug auf eisenabhängige Mikroorganismen, wie z. B. der Staphylokokken (*Staphylococcus albus*).

3. IgA

Das IgA des Bronchialsekrets, auch Sekret-IgA genannt, ist durch folgende Besonderheiten charakterisiert (16, 18, 21, 33, 35, 37, 49, 53, 61, 80, 81, 82, 87):

a) Sekret-IgA ist ein Glykoprotein mit typischer Immunglobulinstruktur seines immunologisch aktiven Anteils (Dimer von 7 S-IgA) und der elektrophoretischen Beweglichkeit eines γ_1 -Globulins. Es besteht aus zwei Molekülen (Dimer) des 7 S-IgA und einem sogenannten Sekret- oder Transportstück, welches immunologisch aktiv ist:



b) Das lokal in den epithelialen Drüsenzellen der Bronchialschleimhaut synthetisierte Sekret-IgA schlägt

sich an der Oberfläche der Mucosa als ein Film nieder und findet sich außerdem im Fibrillennetz des Tracheobronchialschleimes dicht eingelagert.

- c) Sekret-IgA ist durch seine Beständigkeit gegenüber Hitze, gegenüber proteolytischen Fermenten und gegen reduktive Spaltung durch Mercaptane ausgezeichnet.
- d) Sekret-IgA ist durch eine Reihe verschiedener Antikörperqualitäten, insbesondere durch Antikörper gegen Influenza-Antigen, Adenoviren, Rhinoviren, Polioviren und andere pathogene Keime, welche vorzugsweise die Tracheobronchialschleimhaut zu besiedeln pflegen, ausgezeichnet.
- e) Der immunologisch aktive Anteil des Sekret-IgA bedarf bei seiner Antigen-Antikörper-Reaktion mit dem spezifischen Antigen keines Komplements. Dies scheint kein Nachteil zu sein, weil in Sekreten eine Phagozytose nicht gegeben ist.
- f) IgA (sowie Sekret-IgA) besitzt darüber hinaus die Fähigkeit, mit anderen, unspezifischen Proteinen Komplexe zu bilden, eine Besonderheit, die die Verhaftung oder "Klebekraft" an der Schleimhautoberfläche bzw. die Einlagerung in die Schleimsubstanz garantiert.

4. IgE

Obgleich IgE in der vorliegenden Studie offenbar wegen des zu niedrigen quantitativen Gehaltes nicht nachgewiesen werden konnte, soll im nachfolgenden über seine Bedeutung im Sputum kurz berichtet werden.

IgE, ein Immunglobulin, das erst 1966/67 entdeckt und als der Reagin-Typ-Antikörper identifiziert wurde (7, 48, 50), steht im Mittelpunkt aller allergischen Schleimhautreaktionen vom Soforttyp. IgE wurde, außer im Serum, erst jüngst im Speichel, Nasensekret, Sputum sowie Harn nachgewiesen (48). Es findet sich außerdem in Plasmazellen der Mucosa und der regionalen Lymphknoten des Respirationstraktes, der Tonsillen und adenoiden Anhangsorgane sowie an Mastzellen und basophilen Leukozyten. IgE-bildende Zellen wurden dagegen in der Milz und in subkutanen Lymphknoten nur spärlich aufgedeckt. Auf Grund jüngster Befunderhebungen findet sich IgE schließlich bei Atopikern u. a. in den epitheloiden Drüsenzellen der Bronchialschleimhaut, hier insbesondere der kleinen Bronchien und der Bronchiolen.

5. Lysozym

Lysozym, im Elektrophoresediagramm als Post- γ -Globulinfraktion dargestellt, ist durch seine bakterizide Fähigkeit ausgezeichnet. Lysozym vermag vor allem Polysaccharide, wie sie in der Kapselsubstanz einer Reihe pathogener Keime vorkommen, durch Hydrolyse zu destruieren.

Das Vorherrschen wenigstens zweier besonderer Klassen des menschlichen Immunglobulinsystems, des IgA und des IgE in den Epitheloidzellen der Tracheobronchialschleimhaut und im Bronchialsekret darf als Teilausdruck eines eigenständigen, immunologisch wirksamen Barrierensystems gegenüber Fremd-

antigenen gewertet werden.

Mit Bezug auf Antigene bakterieller, viraler oder mycetaler Herkunft gilt nach heutiger Kenntnis folgendes Konzept des Sensibilisierungsvorganges:

Gelangt antigenes Protein in das Drüsenepithel der Bronchialschleimhaut, so erfolgt hier, dank der vielseitigen fermentativen Aktivitäten, der Abbau von Fremdprotein zu niedermolekularen Antigenfaktoren, die von schleimhautspezifischen "Antigen-Erkennen-Lymphozyten", sogenannten "Theliolymphozyten" ⁺) (23, 24) wahrscheinlich direkt aufgenommen werden. Ob dieselben lymphoidzelligen Elemente zu Vorstufen der spezifischen Antikörperbildner heranreifen können oder ob diese Theliolymphozyten ihr antigenes Material einer anderen Lymphozytenpopulation, etwa in der Submucosa oder in den regionalen Lymphknoten weiterreichen, kann derzeit noch nicht exakt beantwortet werden. Fest steht aber, daß unter dem Einfluß eines Antigens in der Bronchialschleimhaut selbst ein reiches, zunächst lymphoidzelliges und später vorwiegend plasmazelluläres Infiltrat entwickelt wird mit der Fähigkeit, vorrangig IgA zu bilden. Dieses IgA (7 S-IgA) wird nunmehr aus den Plasmazellen freigesetzt und den oberflächlich gelegenen epithelialen Drüsenzellen der Bronchialschleimhaut zugeführt. Dort erfolgt die Synthese bzw. Aggregation zu dem bereits beschriebenen Sekret-IgA (11 S-IgA).

⁺) Der Begriff "Theliolymphozyten" wird hier im Analogieschluß aus den histomorphologischen Befunden des Intestinaltraktes übernommen.

Als solches erlangt es in hervorragendem Maße Bedeutung als ein "Kopro"- oder "Muco-Antikörper". Dabei scheint die Muco-Antikörperfunktion nicht, oder nicht allein, auf einer spezifischen bakteriziden Wirkung, sondern auf der Fähigkeit zu beruhen, der Resorption von Fremdanigen entgegenzuwirken. Die Resorption wird allein dadurch erschwert, daß IgA durch seine - offenbar rein physikalische - Affinität zu verschiedenen Eiweißstrukturen eine besondere Haftfähigkeit besitzt, außerdem dadurch, daß es, insbesondere im Verband mit seinem spezifischen Antigen, einen schwer aufschließbaren Komplex darstellt, der im Fibrillennetz des Bronchialschleimes oder im Zytoplasma der Epitheloidzellen festgehalten wird.

Mit Bezug auf A l l e r g e n e und die Bildung spezifischer Reagin-Typ-Antikörper der IgE-Klasse gilt im wesentlichen das gleiche Sensibilisierungsprinzip wie für das IgA, nur mit dem Unterschied, daß hier das IgE in zwei verschiedenen Formen vorliegt: einerseits als löslicher Antikörper in den Epithelzellen und im Schleim der Mucosa, andererseits als membranfixierter Antikörper an Mastzellen und basophilen Leukozyten der Submucosa. Darüber hinaus gelangt ein Teil des lokal gebildeten IgE über den Lymph- und Blutweg in alle Gewebe - unter anderem in die Haut -, in welchen speziell Mastzellen und Basophile in bindegewebigen Komplexen in Gefäßnähe eingelagert sind. Bekanntlich wird die reaginabhängige, allergisch-hyperergische Reaktion letzten Endes durch einen Histamineffekt ausgelöst, welchem die Antigen-Antikörper-Reaktion am zellständigen

IgE - Antikörper vorausgehen muß. Die Antigen-Antikörper-Reaktion freier IgE-Moleküle mit isoliertem Allergen führt demgegenüber zu *keiner* Histaminfreisetzung und somit auch zu keiner Reaktion vom Soforttyp. Die Schutzfunktion freier IgE-Moleküle im Bereich des Bronchialepithels und -schleimes ist infolgedessen darin zu sehen, daß diese IgE-Antikörper ihre spezifischen Allergene unter der Bildung von Immunkomplexen abzufangen und somit vor dem Eindringen in tiefere Schichten der Bronchialschleimhaut, etwa bis hin zu den mastzellen-gebundenen IgE-Antikörpern zu verhindern vermögen. Auf diesem Konzept beruht wahrscheinlich auch die hinlänglich bekannte unterschiedliche Reaktionsbereitschaft eines sensibilisierten Organismus in Abhängigkeit vom Applikationsmodus eines spezifischen Allergens: Intrakutan und streng lokal, z. B. per inhalationem verabreichtes Antigen führt im allgemeinen zu nur lokaler unmittelbarer Reizbeantwortung, intravenös und intramuskulär appliziertes Antigen zur generalisierten Reaktion vom Soforttyp.

Es ist wahrscheinlich, daß auch für die lokale Bildung von IgG- sowie IgM-Antikörpern eine Verhaftung an Epithelzellen und im Schleim zur vordergründigen Abpufferung spezifischer Antigene erfolgen muß; exaktes Wissen liegt hierüber jedoch nicht vor.

Die Kenntnis über die Zusammensetzung der Sputumproteine unter normalen Bedingungen erlangt Bedeutung für klinisch-diagnostische Fragestellungen bei Erkrankung des tracheo-

broncho-pulmonalen Systems. Sie vermögen Auskunft zu geben über die anatomisch-histomorphologische Beschaffenheit einerseits sowie über den Funktionszustand, insbesondere über die lokale immunologische Barrierenfunktion der Schleimhautschichten, einschließlich partieller Fehlleistungen andererseits.

C. Zusammenfassung

Es wurde ein sputumspezifisches Antiserum hergestellt, mit welchem Sputumproben von Kranken mit chronischer Bronchitis, vorwiegend asthmoider Bronchitis, sowie von klinisch Gesunden immunchemisch analysiert wurden.

Dabei wurden die Immundiffusionstechnik und die Immunelektrophorese angewandt. Der Vergleich mit menschlichem Serum und die Identifizierung mit monovalenten Antiserumproteinen erbrachte eine Reihe identischer Proteine im Sputum und Serum von Kranken und Gesunden. Selbst nach Absorption des Sputumantiseraums mit Serum sowie der Sputumproben mit Antihumanserum und nachfolgenden immunchemischen Analysen mit dem spezifischen Antisputumserum, erbrachten die Untersuchungen, wenn man von dem hinlänglich bekannten Nachweis des Lactoferrins und des Sekretstücks absieht, keinen sicheren Befund über die Existenz eines streng sputumspezifischen Proteins, das nicht gleichzeitig eine zumindest partielle Identität mit Serumprotein aufwies. Dennoch muß daran festgehalten werden, daß als Quellen der Sputumproteine unterschiedliche Zellsysteme und unterschiedliche Örtlichkeiten in Frage kommen: die Schleimhaut des Respirationstraktes selbst, darüber hinaus die Bildungsstätten, die im wesentlichen Serumproteine synthetisieren, welche dann per diffusionem in Schleimhaut und Sekret gelangen können.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. ANZAI, T., J. IBAYASHI, C.M. CARPENTIER and L. HYDE:
Beta-2-A globulin as a molecular constituent of insoluble
bronchial mucus gel.
Amer. Rev. Resp. Dis. 88, 503 (1963)
2. ARTENSTEIN, M.S., I.A. BELLANTI and E.L. BUESCHER:
Identification of the antiviral substances in nasal se-
cretions, presented at the 56th annual meeting of the
American Society for Clinical Investigation, May 3rd, 1964.
3. ATASSI, M.Z., S.A. BARKER, L.E. HOUGHTON and K.S. MULLARD:
Mucoproteins of bronchial mucus.
Nature (London) 192, 1269-70 (1961)
4. ATASSI, M.Z., S.A. BARKER and M. STACEY:
Neuraminic acid and its relation to chronic bronchitis.
III. Carbohydrate constituents of sputum.
Clin. chim. Acta 4, 823 (1959)
5. ATASSI, M.Z., S.A. BARKER, M. STACEY:
Glass column electrophoresis of sputum.
Clin. chim. Acta 7, 706 (1962)
6. ATASSI, M.Z., S.A. BARKER, M. STACEY:
Isolation of homogeneous mucoproteins.
Clin. chim. Acta 7, 588 (1962)
7. BENNICH, H., S.G.O. JOHANSSON:
Studies on a new class of human immunoglobulins.
II. Chemical and physical properties.
Nobel Symposium 3: Gamma globulins, structure and control
of biosynthesis (Ed. J. Killander), p. 695. Almquist &
Wiksell, Stockholm 1967
8. BISERTE, G., R. HAVEZ, C. VOISIN, P. DELAHOUSE,
R. CUVELIER and C. GERNEZ-RIEUX:
Study of the protein composition of the sputum in chronic
bronchorrheas. I. Contribution of immunoelectrophoretic
methods.
Lille Med., 6, 51-61 (1961)

9. BONOMO, L., U. GILLARDI, V. LISO:
Study of the proteins and immunoglobulins in the sputum of chronic bronchitis patients.
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 43, 542-4 (31 May 1967)
10. BROGAN, T.D.:
The carbohydrate complexes of bronchial secretion.
Biochem. J. 71, 125-31 (1959)
11. BROGAN, T.D.:
The high molecular weight components of sputum.
Brit. J. exp. Path. 41, 288 (1960)
12. BÜRGI, H.:
Modifications of expectoration during bacterial infection and antibiotic treatment.
Poumon.Coer. 26, 17-24 (1970)
13. BÜRGI, H., T. MEDICI:
Immunglobulin A and Immunglobulin G systems in spastic bronchitis of childhood.
Deutsch. Med. Wschr. 95, 91 Jan. 70 cit. no. 4533273
14. BÜRGI, H. und J. REGLI:
Ergänzung zu früher publizierten Befunden über den Wirkungsmechanismus von N-Cyclohexyl-N-methyl-(2-amino-3,5-dibrombenzyl)-ammoniumchlorid.
Therap. Umschau 24, 116 (1967)
15. BÜRGI, W., H. BÜRGI and E. LANDIS:
Studies on the soluble proteins of bronchial secretions in patients with chronic obstructive bronchitis during mucolytic treatment.
Med. thorac. 24, 379 (1967)
16. BURRELL, R.G., J.P. WALLACE and C.E. ANDREWS:
Lung antibodies in patients with pulmonary disease.
Amer. Rev. Resp. Dis. 89, 697 (1964)

17. CHODIRKER, W.B. and T.B. TOMASI:
Gamma globulins: quantitative relationships in human serum and nonvascular fluids.
Science 142, 1080 (1963)
18. COLLINS-WILLIAMS, C., C. LAMENZA and H. KOKUBU:
Deficiency of IgA in serum and respiratory secretions.
Rev. Allergy 23, 202 (1969)
19. CUVELIER, R.:
Étude des Glykoprotéines de l'Expectoration.
Thesis, Lille 1963
20. DENNIS, E.G., M.M. HORNBROOK and K. ISHIZAKA:
Serum proteins in sputum of patients with asthma.
J. Allergy 35, 464 (1964)
21. DOUGLAS, R.G., R.D. ROSSEN, W.T. BUTLER and R.B. COUCH:
Rhinovirus neutralizing antibody in tears, parotid saliva, nasal secretions and serum.
J. Immunol. 99, 297 (1967)
22. ERIKSON, S.:
Pulmonary emphysema and alpha antitrypsin deficiency.
Asta Med. Scand. 175, 197 (1964)
23. FICHTELIUS, K.E.:
The gut epithelium -- a first level lymphoid organ ?
Exp. Cell. Res. 49, 87-104 (1968)
24. FICHTELIUS, K.E., E.J. YUNIS and R.A. GOOD:
Occurrence of lymphocytes within the gut epithelium of normal and neonatally thymectomized mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128, 185-8 (1968)
25. FRANCIS, Th., jr.:
Faktoren der Immunität gegen respiratorische Infekte.
Dtsch. med. Wschr. 94, 355 (1969)

26. GEISLER, L., G.W. BACHMANN and D. NOLTE:
Alpha-1-Antitrypsin und Lungenemphysem.
Verb. dtsch. Ges. inn. Med. 720 (1969)
75. Kongreß, Wiesbaden 1969.
27. GERNEZ-RIEUX, C., G. BISERTE, C. VOISIN, R. HAVEZ et
R. CUVELIER:
Étude biochimique de l'expectoration au cours de la
bronchite chronique. Caractéristiques et variations
des glykoprotéides riches en acides sialiques.
J. franç. Méd. Chir. thor. 2, 125 (1963)
28. GÖTZ, H.:
Immunchemische Untersuchungen an Sputumproteinen und
der Bronchialschleimhaut vor und nach Sekretolyse.
Z. Immunit. forsch. 140, 272-281 (1970)
29. GÖTZ, H.:
Sekretolyseeffekte auf Sputumproteine.
Med. Klin. 1971 (im Druck)
30. GÖTZ, H. und M. FISCHER:
Verhalten der elektrophoretisch, biochemisch und
immunologisch definierbaren Proteine des Sputums unter
Sekretolyse.
Clin. chim. Acta 30, 53-64 (1970)
31. GRABAR, P. und P. BURTIN:
Immunelektrophoretische Analyse.
Elsevier (Amsterdam) 1964
32. GRABAR, P. und C.A. WILLIAMS:
Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés
électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de
protéines; application au sérum sanguin.
Biochim. biophys. Acta 10, 193 (1953)
33. HAGADORN, J.E. and R.G. BURRELL:
Lung-reactive antibodies in the IgA fraction of sera
from patients with pneumoconiosis.
Clin. Exp. Immun. 2, 225 (1967)

34. HAGADORN, J.E., R.G. BURRELL and C.E. ANDREWS:
Immunochemical analysis of lung-reactive antibodies in human serum.
Amer. Rev. Resp. Dis. 94, 751 (1966)
35. HANSSON, L.A.:
Immunoglobulin A in Sekreten - ein Immunschutz für Schleimhäute.
Nordisk Med. 79, 1938 (1968)
36. HAVEZ, R., P. DEGAND, P. ROUSSEL, G. BISERTE:
Isolement et caractérisation immunologique de la kallikréine bronchique humaine.
C. R. Acad. Sci. (D) (Paris) 262, 309-11 (1966)
37. HAVEZ, R., P. DEGAND, P. ROUSSEL, C. VOISIN, G. BISERTE et Ch. GERNEZ-RIEUX:
Identification des gamma A-globulines, de la kallikréine et de la transferrine dans la muqueuse bronchique humaine.
C. R. Sci. (D) (Paris) 262, 1777-9 (Apr. 66)
38. HAVEZ, R., M. DEMINATTI, P. ROUSSEL, P. DEGAND, A. RANDOUX et G. BISERTE:
Étude de glycoprotéines carboxyliques de la sécrétion bronchique humaine.
Clin. chim. Acta 17, 463 (1967)
39. HAVEZ, R., P. ROUSSEL, P. DEGAND et G. BISERTE:
Étude des structures fibrillaires de la sécrétion bronchique humaine.
Clin. chim. Acta 17, 281 (1967)
40. HAWORTH, J.C. and L. DILLING:
Concentration of gamma-A-globulin in serum saliva and nasopharyngeal secretions of infants and children.
J. Lab. Clin. Med. 67, 922 (1966)
41. HENKIN, R.I. and H.A. BISHOP:
Pulmonary clearance of radioactive iodinated albumin in man.
J. Lab. Clin. Med. 60, 709 (1962)

42. HEREMANS, J.F.:

Die biologische Bedeutung des exokrinen IgA-Immunglobulins.
Behringwerk-Mitt. 49 (1969) 28, (S. 28-55)

43. HEREMANS, J.F. and P.A. CRABBE:

Gamma Globulins-Structure and control of Biosynthesis.
Nobel Symposium Stockholm 1967. J. Killander (Ed.),
Interscience Publ. N.Y. S. 129 (1967)

44. HEREMANS, J.F., P.A. CRABBE and P.L. MASSON:

Biological significance of exocrine gamma-A-immunoglobulin.
Acta Med. Scand. 179, (Suppl. 445) 84 (1966)

45. HEREMANS, J.F., J.P. VAERMAN, A.O. CABONARA, J.A. RODHAIN
and M.-Th. HEREMANS:

Gamma-1-A-Globulin (B₂A-globulin): Its isolation, properties,
functions and pathology.
Protides Biol. Fluids, Proc. Colloq. 10, 108 (1962)

46. HOCHWALD, G.M., E.B. JACOBSON and G.J. THORBECKE:

C¹⁴-amino acid incorporation into transferrin and B₂A-globulin
by ectodermal glands in vitro.
Fed. Proc. 23, 557 (1964)

47. HOLUB, M.:

The cellular sources of antibodies in diffusion chamber
cultures of alveolar exudates.
Experientia 25, 1190-2 (15 Nov.69)

48. ISHIZAKA, K., T. ISHIZAKA:

Human reaginic antibodies and immunoglobulin E.
J. Allergy 42, 330 (1968)

49. ISHIZAKA, K., T. ISHIZAKA, E.H. LEE and H. FUDENBERG:

Immunochemical properties of gamma-A-isohumagglutinin.
J. Immunol. 95, 197 (1965)

50. JOHANSSON, S.G.O., H. BENNICH:

Immunological studies of an atypical (myeloma) immunglobulin.
Immunology 13, 381 (1967)

51. KEIMOWITZ, R.I.:

Immunglobulins in normal human tracheobronchial washings.
J. Lab. Clin. Med. 63, 54 (1964)

52. LICHT, W.:

Über die Vorbehandlung von Sputumproben mit Ultraschall
und ihre Bedeutung für Sputumanalysen.

Vortrag: Wissenschaftl. Tagung d. Arb. Gemeinschaft des
Saarlandes f. Silikoseforschung u. Silikosever-
hütung e. V. Saarbrücken, Nov. 1967.

53. MACH, J.P., J.J. PAHUD:

Une IgA à coefficient de sédimentation 11 S dans les
sécrétions externes de l'espèce bovine.

Experientia 25, 1083-4 Oct. 69 Cit. no. 4502107

54. MARTINEZ-TELLO, F.J., D.G. BRAUN and W.A. BLANC:

Immunoglobulin production in bronchial mucosa and bronchial
lymphonodes, particularly in cystic fibrosis of the pancreas.

J. Immunol. 101, 989 (1968)

55. MASSON, P., A.O. CARBONARA and J.F. HEREMANS:

Studies on the proteins of human saliva.

Biochim. Biophys. Acta 107, 485-500 (1965)

56. MASSON, P., J.F. HEREMANS and J. PRIGNOT:

a) Studies on the proteins of human bronchial secretions.

Biochim. Biophys. Acta 111, 466-78 (1965)

57. b) Immunohistochemical localization of the iron-binding
protein lactoferrin in human bronchial glands.

Experientia 21, 604-5 (1965)

58. MASSON, P.L., J.F. HEREMANS, J.J. PRIGNOT, G. WAUTERS:

Immunohistochemical localization and bacteriostatic pro-
perties of an iron-binding protein from bronchial mucus.

Thorax 31, 538-44 (1966)

59. MAURER, H.:

Die serumidentischen Proteine im Tracheobronchialsekret
und ihr Verhalten unter N-Cyclohexyl-N-methyl-(2-amino-
-3,5-dibrombenzyl)-ammoniumchlorid.

Dtsch. Med. J. 19, 634 (1968)

60. MAURER, H. und G. HEINEN:
Untersuchungen zur Charakterisierung der im Tracheo-
bronchialsekret enthaltenen Proteine.
Arch.klin.exp. Ohr.-Nas.-und Kehlk.-Heilk. 188, 552 (1967)
61. McFARLIN, D.E., W. STROBER, R.D. WOCHNER and T.A. WALDMANN:
Immunoglobulin-A Production in Ataxia Telangiectasia.
Science 150, 1175 (1965)
62. MEIERS, H.G., D. BEISENHERZ, H. BRÜSTER, D. STRASSBURGER
und H. GREUEL:
Alpha₁-Antitrypsin-Defekt und Lungenemphysem.
Dtsch. Med. Wschr. 93, 1633 (1968)
63. MONTREUIL, J., J. TONNELAT, S. MULLET:
Preparation and properties of lactosiderophilin (lacto-
transferrin) of human milk.
Biochim. Biophys. Acta 45, 413-21 (1960)
64. NADOLNY, Ch. und M. BÜCHNER:
Zur Elektrophorese von Sputum.
Dtsch. Ges.-Wesen 16, 1023 (1961)
65. NEWCOMB, R.W., B. de VALD:
Protein concentrations in sputa from asthmatic children.
Albumin, lactoferrin, gamma-A and gamma-G.
J. Lab. clin. Med. 73, 734 (1969)
66. NICOLAS, R.:
Klinisch-experimentelle Sputumuntersuchungen bei chronischer
Bronchitis.
Med. thorac. 21, 223 (1964)
67. OUCHTERLONY, Ö.:
Diffusion-in-gel methods for immunological analysis.
Progr. Allergy 5, 1 (1958)
68. POTTER, J.W., L.W. MATTHEWS, J. LEMM and S. SPECTOR:
Human pulmonary secretions in health and disease.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 106, 692 (1963)

69. RASCHE, B. und W.T ULMER:
Untersuchungen über die Zusammensetzung des Bronchial-
schleims bei chronisch obstruktiver Bronchitis.
Pneumonologie 144, 10 (1971)
70. ROSSEN, R.D., C. MORGAN, K.C. HSU, W.T. BUTLER and H.M. ROSE:
Localization of 11 S external secretory IgA by immunofluo-
rescence in tissues lining the oral and respiratory passa-
ge in man.
J. Immunol. 100, 706 (1968)
71. ROUSSEL, P., P. DEGAND, A. RANDOUX et R. HAVEZ:
Activités fonctionnelles des mucines bronchiques.
Progr. Resp. Res. 6, 15 (1971)
72. RYLEY, H.C.:
An electrophoretic study of the sol phase of sputum.
J. Lab. Clin. Med. 75, 382-90, (march 1970)
73. SCHEIDEGGER, J.J.:
Une micro-methode de l'immuno-electrophorèse.
Int. Arch. Allergy 7, 103 (1955)
74. SCHULTZE, H.E. and J.F. HEREMANS:
Molecular Biology of human Proteins.
Vol. I. S. 816 Elsevier Publ. Co., Amsterdam-London-
New York 1966
75. SLAVIN, R.G., L. MILLION, J. CHERRY:
Allergic bronchopulmonary aspergillosis:
characterization of antibodies and results of treatment.
J. Allergy 46, 150-5 (Sep. 70) Cit. no. 5247633
76. SOOTHILL, J.F. and J.R. SQUIRE:
The antibody deficiency syndrome.
In: Clinical Aspects of Immunology.
F. A. Davis Co., Philadelphia 1963 p. 288

77. SOUTH, M.A., M.D. COOPER, F.A. WOLLHEIM, R. HONG and R.A. GOOD:
The IgA System.
(I. Studies of the Transport and Immunochemistry of IgA in the Saliva.)
J. Exp. Med. 123, 615 (1966)
78. SOUTH, M.A., W.J. WARWICK, F.A. WOLLHEIM and R.A. GOOD:
The IgA System. 3. IgA levels in the serum and saliva of pediatric patients -- evidence for a local immunological system.
J. Pediat. 71, 645-53 (Nov. 1967)
79. SUHS, R.H., H.F. DOWLING and G.G. JACKSON:
Hypogammaglobulinemia with chronic bronchitis or bronchiectasis.
Arch. Intern. Med. (Chicago) 116, 29 (1965)
80. THOMPSON, R.A., P. ASQUITH and W.T. COOKE:
Secretory IgA in the Serum.
Lancet, Sept. 6, 517-9 (1969)
81. TOMASI, T.B. jr., E.M. TAN, A. SOLOMON and R.A. PRENDERGAST:
Characteristics of an immune system common to certain external secretions.
J. Exp. Med. 121, 101 (1965)
82. TOMASI, T.B. and S. ZIGELBAUM:
The selective occurrence of gamma₁-A globulins in certain body fluids.
J. Clin. Invest. 42, 1552 (1963)
83. TOURVILLE, D.R., R.H. ADLER, J. BIENENSTOCK and T.B. TOMASI:
The human secretory immunoglobulin system: Immuno-histological localization of gamma-A, Secretory "Piece" and Lactoferrin in normal human tissues.
J. Exptl. Med. 129, 411 (1969)
84. TÜRK, E., S. WIERSBITZKY:
Das IgA- und IgG-System bei Kindern mit spastischer Bronchitis.
Deutsch. Med. Wschr. 94, 2554-7 (5 Dec. 69) Cit. no. 4511400

85. VAERMAN, J.P., J.F. HEREMANS, G. van KERCKHOVEN:
Communications. Identification of IgA in several mammalian species.
J. Immun. 103, 1421-3 (Dec. 69) Cit. no. 453 1555
86. VISCONTI, R.J.:
Agammaglobulinemia with bronchopulmonary manifestations.
Dis. Chest. 48, 530 (1965)
87. WALDMAN, R.H., J.J. MANN, J.A. KASEL:
Influenza virus neutralizing antibody in human respiratory secretions.
J. Immun. 100, 80-5 (Jan. 68)
88. WIERSBITZKY, S. und E. TÜRK:
Die Immunglobuline im Serum und Tracheobronchialsekret bei Säuglingen und Kleinkindern mit rezidivierenden bronchopulmonalen Erkrankungen.
Z. Kinderheilk. 104, 1 (1968)
89. WIERSBITZKY, S., E. TÜRK, H. WIERSBITZKY:
Immunoglobuline, Laktoferrin und Sekretoreigenschaft und ihre Beziehungen zur Bronchitis spastica des Säuglings und Kleinkindes.
Allerg. Asthma (Leipzig) 15, 118-24 (1969) Cit. no. 4535637
90. WOLLHEIM, F.A. and R.C. WILLIAMS jr.:
Immunoglobulin studies in six kindreds of patients with adult hypogammaglobulinemia.
J. Lab. Clin. Med. 66, 433 (1965)
91. ZEDDA, S., L. AMANTA e L. AMBROSIO:
Studio immunologico sull'escreato di bronchitici cronici.
Med. d. Lavoro 60, 350 (1969)

Lebenslauf

Am 16. 6. 1930 wurde ich in Berlin geboren als Tochter des Schornsteinfegermeisters Johannes Döhner und seiner Ehefrau Käte. Die Kriegszeit verbrachte ich z.T. in Berlin und z.T. in Ostpreußen im Schullager.

Nach 1945 besuchte ich die "Oberschule für Mädchen im Bezirk Kreuzberg" und schloß dort 1949 mit dem Abitur ab.

1950 begann ich im Oskar-Helene-Heim die Ausbildung zur Krankengymnastin und erhielt 1953 die staatliche Anerkennung.

Von 1955 bis 1964 war ich verheiratet. Nach dem Tode meines Mannes nahm ich meine Tätigkeit als Krankengymnastin wieder auf, sowohl freiberuflich als auch in einem Städtischen Krankenhaus. In den folgenden Jahren wuchs mein Interesse an der Medizin, ich begann 1967 mit dem Studium an der Freien Universität Berlin und habe am 6. August 1973 die ärztliche Prüfung bestanden.

